

# 九种常用杀虫剂对二化螟线粒体 ATPase 活力的抑制作用

李海平<sup>1,2</sup>, 冯涛<sup>1</sup>, 陶岭梅<sup>3</sup>, 刘学<sup>3</sup>, 姜辉<sup>3</sup>, 林荣华<sup>3</sup>, 梁沛<sup>1</sup>, 高希武<sup>1\*</sup>

(1. 中国农业大学昆虫学系, 北京 100094; 2. 内蒙古农业大学农学院, 呼和浩特 010019;

3. 农业部农药检定所, 北京 100024)

**摘要:** 研究了二化螟 *Chilo suppressalis* 线粒体  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  和  $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$  的生物化学性质以及 9 种常用杀虫剂对这两种酶活性的影响。结果表明, 二化螟线粒体  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  和  $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$  的最适反应条件为 pH 值 7.4 温度 37℃。  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  的米氏常数 ( $K_m$ ) 为 0.42 mmol/L, 最大反应速度 ( $V_{\max}$ ) 为 302.47 nmol/(min·mg)。  $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$  的  $K_m$  为 0.40 mmol/L,  $V_{\max}$  为 128.04 nmol/(min·mg)。药剂浓度为  $1 \times 10^{-4}$  mol/L 时, 5 种菊酯类杀虫剂对离体 ATPase 活性抑制的顺序为: 溴氰菊酯 > 联苯菊酯 > 百树菊酯 > 三氟氯氰菊酯和氟硅菊酯; 对二化螟  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  的抑制率分别为 40.12%、39.69%、27.27%、19.49% 和 18.71%。对  $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$  的抑制率分别为 29.27%、23.78%、19.88%、11.64% 和 14.34%。硫丹对二化螟  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  和  $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$  的抑制率均为 17.46%。甲胺磷和呋喃丹对  $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$  的抑制率分别为 27.16% 和 17.42%。对  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  则几乎没有抑制作用。实验结果还表明, 在  $1.6 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-4}$  mol/L 的浓度范围内, 上述 9 种杀虫剂对二化螟 ATPase 活性的抑制率存在明显的剂量-效应关系。

**关键词:** 二化螟; 腺苷三磷酸酶; 杀虫剂; 酶活性; 抑制率

中图分类号: Q965 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2006)02-0254-06

## Inhibition of ATPase activity in mitochondria of *Chilo suppressalis* by nine common insecticides

LI Hai-Ping<sup>1,2</sup>, FENG Tao<sup>1</sup>, TAO Ling-Mei<sup>3</sup>, LIU Xue<sup>3</sup>, JIANG Hui<sup>3</sup>, LIN Rong-Hua<sup>3</sup>, LIANG Pei<sup>1</sup>, GAO Xi-Wu<sup>1\*</sup> (1. Department of Entomology, China Agricultural University, Beijing 100094, China; 2. Department of Agronomy, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010019, China; 3. Institute for the Control of Agrochemicals, Ministry of Agriculture, Beijing 100024, China)

**Abstract:** The characteristics of  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  and  $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$  in mitochondria of *Chilo suppressalis* and inhibition of these two types of ATPases by nine common insecticides, i. e., deltamethrin, bifenthrin, cyfluthrin, cyhalothrin, salifluofen, endosufan, methamidophos, carbofuran and triazophos, were determined. The results indicated that the optimum pH value of  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  was 7.4, and the optimum temperature 37℃ for both  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  and  $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ . The Michaelis constant ( $K_m$ ) of  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  hydrolyzing ATP was 0.42 mmol/L, not significantly different from that of  $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$  (0.40 mmol/L). The maximum velocities ( $V_{\max}$ ) hydrolyzing ATP were 302.47 nmol/(mg·min) for  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  and 128.04 nmol/(mg·min) for  $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ , respectively. When the final concentration of insecticides was  $1 \times 10^{-4}$  mol/L, the order of inhibition of to  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  by five pyrethroids insecticides was deltamethrin > bifenthrin > cyfluthrin > cyhalothrin and salifluofen, The percentage of inhibition of  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  activity was 40.12%, 39.69%, 27.27%, 19.49%, and 18.71%, and the percentage of inhibition of  $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$  was 29.27%, 23.78%, 19.88%, 11.64% and 14.34% by the above five pyrethroids respectively when the concentration of inhibitors was  $1 \times 10^{-4}$  mol/L. The potential of endosufan inhibiting the  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  activity was same as its potential inhibiting  $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$  activity, and

基金项目: 国家重点基础研究发展规划“973”项目(G2000016207); 国家自然科学基金项目(39970496)

作者简介: 李海平, 女, 1969 年生, 内蒙古人, 博士研究生, 讲师, 研究方向为昆虫毒理学, E-mail: lhp5820@eyou.com

\* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: gaoxiwu@263.net.cn

收稿日期 Received: 2005-07-05; 接受日期 Accepted: 2005-09-23

the percentage of inhibition was 17.46%. Methamidophos and carbofuran possessed the potential of inhibition to  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase, but no inhibition to  $\text{Na}^{+}$ - $\text{K}^{+}$ -ATPase when their final concentration was  $1 \times 10^{-4}$  mol/L. The inhibition of ATPase activity by nine insecticides was increased with the increasing of insecticide concentration from  $1.6 \times 10^{-7}$  to  $1 \times 10^{-4}$  mol/L.

**Key words:** *Chilo suppressalis*; ATPase; insecticides; enzyme activity; inhibition

ATPase(腺苷三磷酸酶)有  $\text{Na}^{+}$ - $\text{K}^{+}$ -ATPase、 $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase、 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 和  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 等多种类型,广泛分布于生物体内各类细胞质膜上(李宏,1996)。 $\text{Na}^{+}$ - $\text{K}^{+}$ -ATPase 主要功能是催化 ATP 末端磷酸水解,并利用该反应产生的自由能进行  $\text{Na}^{+}$  和  $\text{K}^{+}$  的主动运输,维持膜内外离子的浓度梯度差和细胞膜电位(Skou,1992)。 $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 存在于所有神经组织中,其功能可能与依赖于 ATP 的钙活动有关,从而影响  $\text{Ca}^{2+}$  在膜内外的分布(姜家良,1989)。DDT 和拟除虫菊酯类杀虫剂不但能抑制  $\text{Na}^{+}$ - $\text{K}^{+}$ -ATPase,而且还能抑制  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase。

有关拟除虫菊酯类药剂对 ATPase 抑制的研究,早期多集中在大、小白鼠和兔子等高等动物(Al-Rajhi,1990;张秀莲等,1994)以及鲤鱼、乌贼、龙虾等水生生物方面(Clark and Matsumura,1982)。昆虫方面则主要集中在卫生害虫(Clark and Matsumura,1987;田雨和冷欣夫,1999),对农业害虫的研究相对较少。但是,拟除虫菊酯类药剂是农业上使用量最大的种类之一,对农业害虫的防治起到了重要的作用。作者主要研究了一些常用菊酯类药剂对二化螟 *Chilo suppressalis* ATPase 的抑制作用特性,为进一步研究拟除虫菊酯类杀虫剂的毒理机制提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试昆虫

二化螟为室内人工饲养。饲养条件:  $28 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , 相对湿度 80%~90%, 光周期 16L:8D。

### 1.2 供试药剂及试剂

95%联苯菊酯原药、96.1%氟硅菊酯原药、92%百树菊酯原药、96.4%三氟氯氰菊酯原药和 99%溴氰菊酯原药为江苏扬农化工股份有限公司提供;80.5%三唑磷原药,浙江永农化工有限公司提供;70%甲胺磷原药,江苏省苏州化工农药集团公司提供;97%呋喃丹原药,江苏省海安农药厂提供;90%硫丹原药,江苏省如东农药厂提供。乌苯苷,Fluka 产品;ATP 二钠盐,德国 Boehringer Mannheim GmbH 公司产品,99%纯度;其他试剂均为国产分析纯。

### 1.3 供试药液的配制

原始溶液的配制:0.05%孔雀石绿溶液(M

液)4.2%钼酸铵溶于 4 mol/L HCl 中(A 液),24%柠檬酸钠盐(C 液),1.5% Tween-20。

显色反应溶液的配制:AM 液:A 液与 M 液按 1:3(V:V)混合后,搅拌 30 min,滤纸过滤存放于聚乙烯瓶中。AMT 液:100 mL AM 液与 4 mL 1.5% Tween-20 混合,现配现用。

### 1.4 酶液制备

采用饥饿法除去二化螟消化道内食物,用玻璃匀浆器将 15 头虫子置于 2 mL Tris-HCl 缓冲液(pH 7.4,1 L 缓冲液中含 Tris 1.21 g、EDTA 0.0372 g、蔗糖 3.42 g、NaCl 8 g、Triton X-100 浓度为 0.05%)在冰浴条件下匀浆,匀浆液在  $4^{\circ}\text{C}$   $3\,000 \times g$  下离心 100 min,取上清液,在  $10\,000 \times g$  下离心 30 min,弃去上清液,沉淀用上述缓冲液再溶解作为酶源备用。

### 1.5 ATPase 活性测定

$\text{Na}^{+}$ - $\text{K}^{+}$ -ATPase 活性测定参照冯北元和徐慕禹(1981)、徐友涵和宋达华(1986)的方法进行,略有修改。反应总体积为 1.0 mL(咪唑 30 mmol/L,NaCl 120 mmol/L,KCl 20 mmol/L,MgCl<sub>2</sub> 5 mmol/L),通过添加 0.2 mL 酶液启动反应。由于乌苯苷可以特异性地抑制  $\text{Na}^{+}$ - $\text{K}^{+}$ -ATPase 的活性,通过在反应体系中添加和不添加乌苯苷(终浓度 0.01 mmol/L),则乌苯苷缺少与存在时所测的酶活性之差即为  $\text{Na}^{+}$ - $\text{K}^{+}$ -ATPase 的活性。

将上述反应体系在  $37^{\circ}\text{C}$  水浴中保温 5 min 后,加入 0.05 mL ATP 二钠盐溶液(ATP 浓度为 3 mmol/L),用漩涡混合器混和后反应 10 min。再取出 0.4 mL 反应液,加入到 2 mL AMT 溶液中,摇匀,精确计时放置 1 min 后,加入 0.4 mL 24%柠檬酸钠,室温放置 40 min 以上,于 660 nm 处测定光密度值。

$\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 活性的测定参照徐友涵和宋达华(1986)的方法。反应总体积为 1 mL(含 MgCl<sub>2</sub> 2 mmol/L,Tris-Maleate(pH 7.0) 25 mmol/L,乌苯苷 0.1 mmol/L,CaCl<sub>2</sub> 36 mmol/L),反应过程同  $\text{Na}^{+}$ - $\text{K}^{+}$ -ATPase。

计算时先由标准曲线计算无机磷(Pi)的生成量,再按照实际蛋白质含量转换成酶的比活力,比活力的单位为 nmol/(min·mg)。

## 1.6 蛋白质含量的测定

参照 Bradford (1976) 考马斯亮蓝 G-250 法, 用牛血清白蛋白 (BSA) 测定蛋白质含量, 绘制标准曲线。取 1 mL 待测酶液 (调整蛋白质含量 20 ~ 100  $\mu\text{g}$ ), 加 5 mL 考马斯亮蓝 G-250 染色液, 混合均匀后 2 min 至 1 h 内测  $\text{OD}_{595 \text{ nm}}$  值。由标准曲线计算酶液中蛋白质含量。去污剂 (如 Triton X-100) 等干扰测定, 但少量的去污剂可通过用适当的对照而消除。实验所制备的酶液中含有 Triton X-100, 但在测定酶液蛋白含量前要对此酶液进行高倍稀释, 并在测定时通过在对照中加入等量的 Triton X-100 以消除误差。

## 1.7 杀虫剂对二化螟 ATPase 活性的抑制

将供试药剂用丙酮配成一定浓度的母液, 然后用缓冲液稀释至所需浓度 (现配现用), 在反应体系中加入酶液和药剂, 其他步骤与 ATPase 的活力测定方法相同。抑制率的计算公式为:

抑制率 (%) = (对照 ATPase 活性 - 药剂处理后 ATPase 活性) / 对照 ATPase 活性  $\times 100\%$ 。

## 1.8 药剂抑制率显著性分析

对抑制率进行反正弦转换后进行差异显著性分析。本实验采用 One-way ANOVA with Dunnett's post test 方法进行多重比较, 用 GraphPad InStat version 3.00 软件进行分析。

# 2 结果与分析

## 2.1 二化螟 ATPase 活力测定最佳反应体系的确立

**2.1.1 温度对 ATPase 活性的影响:** 在反应体系 pH 值为 7.4 反应时间为 10 min 的条件下, 测定了不同温度下 ATPase 的比活力 (图 1)。在 25 ~ 37 $^{\circ}\text{C}$  范围内, 酶活力随反应温度的升高而增加, 超过 37 $^{\circ}\text{C}$  酶活力迅速下降, 故二化螟 ATPase 活力测定的最适温度为 37 $^{\circ}\text{C}$ 。

**2.1.2 pH 值对 ATPase 活性的影响:** 在反应体系温度为 37 $^{\circ}\text{C}$ , 反应时间为 10 min 的条件下, 测定了不同 pH 值缓冲液对 ATPase 活力的影响。结果表明, 在 pH 值 6.5 ~ 7.4 的范围内, 酶活力随 pH 值升高而增加, 当 pH > 7.4 时, 酶活力开始下降, 最适 pH 值为 7.4 (图 2)。

**2.1.3 底物浓度对 ATPase 活力的影响:** 在 pH 值 7.4 温度 37 $^{\circ}\text{C}$ , 反应时间 10 min 的条件下, 测定了底物 ATP 浓度对酶活力的影响 (图 3)。 $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 活性在 ATP 浓度较低时, 随着浓度的增加, 活力呈线性关系; 当 ATP 浓度达到一定值时, 酶活力增加缓慢, 呈典型的米氏方程曲线。按 Lineweaver-Burk 作图法计算  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 的  $K_m$  为 0.40

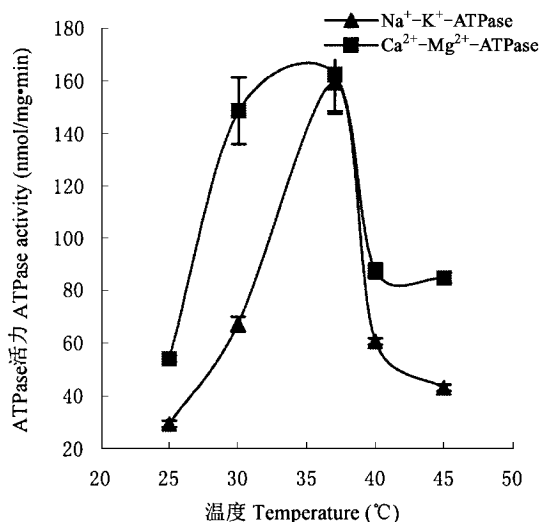


图 1 温度对二化螟 ATPase 活性的影响

Fig. 1 Effect of temperature on ATPase activity in mitochondria of *Chilo suppressalis*

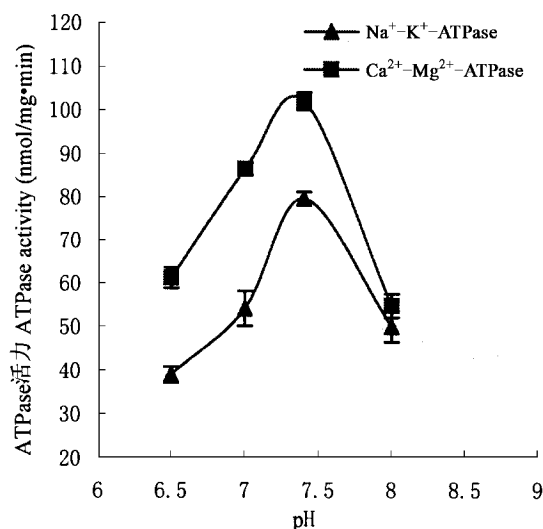


图 2 pH 值对二化螟 ATPase 活性的影响

Fig. 2 Effect of pH on ATPase activity in mitochondria of *Chilo suppressalis*

mmol/L,  $V_{\max}$  为 128.04 nmol/(min·mg),  $\text{Na}^{+}\text{-K}^{+}\text{-ATPase}$  在本实验所用的底物浓度范围内 (0.1 ~ 0.9 mmol/L),  $K_m$  为 0.42 mmol/L,  $V_{\max}$  为 302.47 nmol/(min·mg)。

## 2.2 不同杀虫剂对二化螟 ATPase 活性的抑制

**2.2.1 9 种杀虫剂对 ATPase 活性的抑制:** 当药剂终浓度为  $1 \times 10^{-4}$  mol/L 时, 所测定的菊酯类杀虫剂对二化螟的二种 ATPase 都有一定程度的抑制作用, 但不同的杀虫剂对二化螟 ATPase 的抑制程度不同 (表 1)。溴氰菊酯的抑制作用最强, 其次是联苯菊酯。总的来看, 这 5 种菊酯类杀虫剂对  $\text{Na}^{+}\text{-K}^{+}\text{-ATPase}$  的抑制程度均明显高于对  $\text{Ca}^{2+}\text{-Mg}^{2+}\text{-ATPase}$  的抑制。

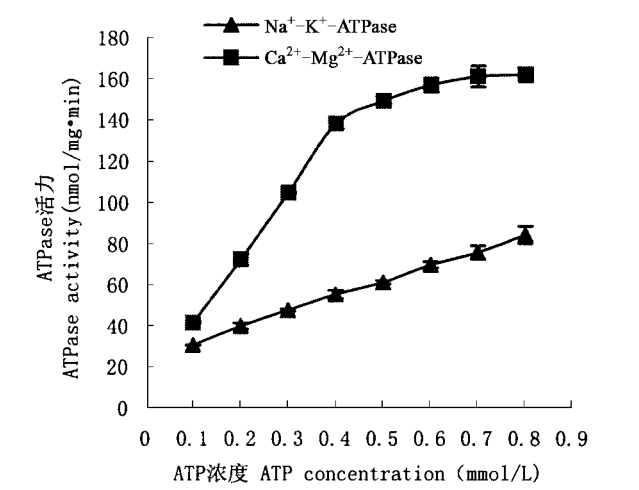


图 3 不同浓度的底物对二化螟 ATPase 活性的影响

Fig. 3 Effect of ATP concentration on ATPase activity in mitochondria of *Chilo suppressalis*

非菊酯类药剂对 ATPase 也有一定程度的抑制作用,但是总的看来抑制作用比菊酯类杀虫剂弱。其中有机氯杀虫剂硫丹对 ATPase 的抑制作用相对较强,而且对  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  和  $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$  的抑制能力基本相同。有机磷、氨基甲酸酯类杀虫

剂对 ATPase 均有一定程度的抑制,但主要抑制  $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ ,对  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  的抑制作用很弱。

表 1 9 种杀虫剂对二化螟 ATPase 的抑制作用

Table 1 Inhibition of ATPase from *Chilo suppressalis* by nine insecticides

药剂 Insecticides ( $1 \times 10^{-4}$ mol/L)	抑制率 Percentage of inhibition ( % )	
	$\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$	$\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$
溴氰菊酯 Deltamethrin	$40.12 \pm 0.21$ a	$29.27 \pm 0.06$ a
联苯菊酯 Bifenthrin	$39.69 \pm 3.51$ a	$23.78 \pm 3.02$ bc
百树菊酯 Cyfluthrin	$27.27 \pm 1.84$ b	$19.88 \pm 2.48$ cd
三氟氯氰菊酯 Cyhalothrin	$19.49 \pm 7.04$ c	$11.64 \pm 4.93$ e
氟硅菊酯 Salifluofen	$18.71 \pm 0.34$ c	$14.34 \pm 0.40$ e
硫丹 Endosulfan	$17.46 \pm 5.61$ c	$17.46 \pm 0.79$ d
甲胺磷 Methamidophos	$6.78 \pm 0.87$ d	$27.16 \pm 2.61$ a
三唑磷 Triazophos	$3.49 \pm 0.22$ d	$12.42 \pm 0.06$ e
呋喃丹 Carbofuran	$3.70 \pm 0.39$ d	$17.42 \pm 1.16$ d

同列数据后不同小写字母表示差异显著 Data within a column followed by different small letters are significantly different ( $P \leq 0.05$ ).

2.2.2 杀虫剂对 ATPase 抑制的剂量-效应关系:由图 4 可见 4 种药剂联苯菊酯、百树菊酯、甲胺磷和呋喃丹对 ATPase 的抑制作用均呈现明显的剂量-效应关系。拟除虫菊酯类药剂对  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  的抑制程度大于对  $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$  的抑制。

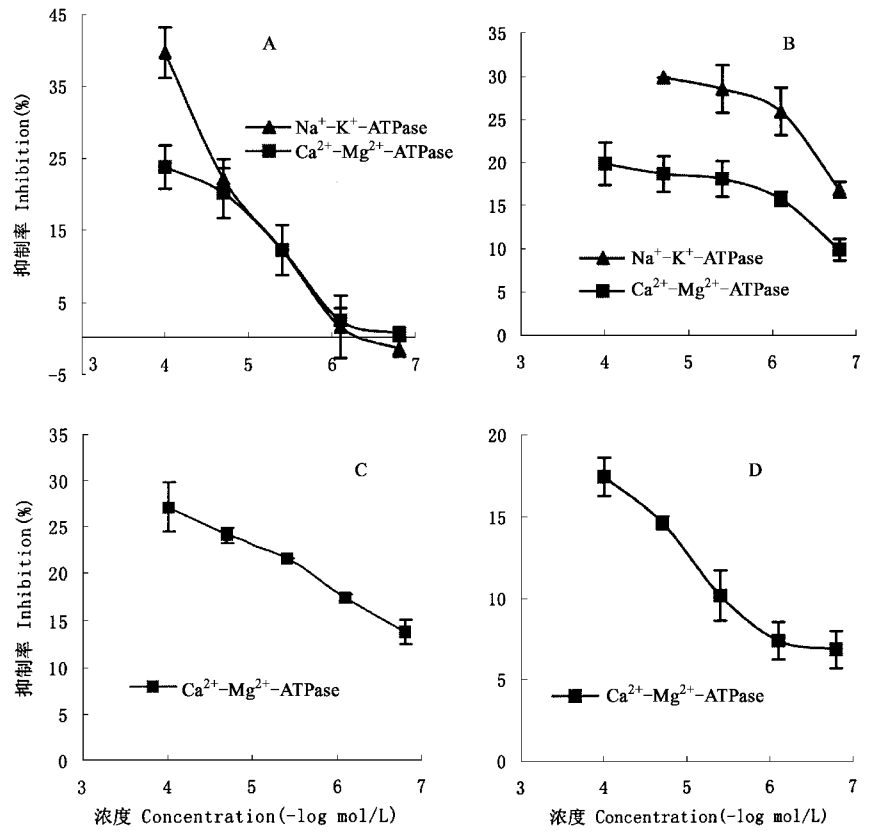


图 4 不同药剂对二化螟 ATPase 抑制的剂量-效应关系

Fig. 4 Inhibition of ATPase activity by different insecticides of different concentrations

A: 联苯菊酯 Bifenthrin ; B: 百树菊酯 Cyfluthrin ; C: 甲胺磷 Methamidophos ; D: 呋喃丹 Carbofuran.

### 3 讨论

拟除虫菊酯类药剂按其化学结构可以分为含有  $\alpha$ -氰基和不含  $\alpha$ -氰基的两大类。依据拟除虫菊酯的生物学效应和电生理学反应将其分为 I 型和 II 型拟除虫菊酯, I 型不含  $\alpha$ -氰基, II 型含有  $\alpha$ -氰基, 后来从 II 型拟除虫菊酯中衍生出了 III 型, 许多研究表明不同型的拟除虫菊酯对不同生物 ATPase 的抑制潜力明显不同 (Matsumura and Ghiasuddin, 1979)。Clark 和 Matsumura (1982) 在用乌贼视神经进行实验时发现, I 型拟除虫菊酯主要作用于  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase, II 型拟除虫菊酯则作用于  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase, 分子结构既类似 I 型又类似 II 型的氯菊酯对两种酶的抑制程度均处于中间水平。

我们选择了 5 种拟除虫菊酯类杀虫剂, 既有 I 型也有 II 型。研究结果显示, 无论 I 型和 II 型, 对  $\text{Na}^{+}$ - $\text{K}^{+}$ -ATPase 活性都有一定程度的抑制作用, 与是否含有  $\alpha$ -氰基无关, 且在一定的浓度范围内, 存在明显的剂量-效应关系; 其中溴氰菊酯的抑制率最高, 浓度为  $10^{-4}$  mol/L 时抑制率达到 40.12%。何运转等 (1999) 研究发现,  $10^{-4}$  mol/L 溴氰菊酯、氯菊酯对敏感品系家蝇 *Musca domestica* 神经系统的  $\text{Na}^{+}$ - $\text{K}^{+}$ -ATPase 活性也有明显的抑制作用, 抑制率分别为 14.73% 和 17.83%。田雨和冷欣夫 (1999) 测定了溴氰菊酯对家蝇  $\text{Na}^{+}$ - $\text{K}^{+}$ -ATPase 的抑制, 发现也存在剂量-效应关系, 溴氰菊酯在浓度为  $10^{-4}$  mol/L 时对敏感品系家蝇  $\text{Na}^{+}$ - $\text{K}^{+}$ -ATPase 的抑制率为 35%。蒋志胜等 (2000) 测定了拟除虫菊酯不同异构体对美洲大蠊 *Periplaneta americana* 中枢神经系统  $\text{Na}^{+}$ - $\text{K}^{+}$ -ATPase 活力的影响, 结果表明:  $10^{-4}$  mol/L 氯氰菊酯顺、反式异构体及高效体对  $\text{Na}^{+}$ - $\text{K}^{+}$ -ATPase 的抑制率分别为 58.8%、55.1% 和 27.1%。本实验中 5 种菊酯类杀虫剂对二化螟  $\text{Na}^{+}$ - $\text{K}^{+}$ -ATPase 的活性都有一定程度的抑制, 与他人的研究结果一致, 说明拟除虫菊酯类杀虫剂对昆虫的  $\text{Na}^{+}$ - $\text{K}^{+}$ -ATPase 具有抑制作用。

在拟除虫菊酯类杀虫剂对二化螟  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 的抑制实验中, 3 种含  $\alpha$ -氰基的 II 型拟除虫菊酯杀虫剂对  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 均有一定程度的抑制作用, 可是 2 种不含  $\alpha$ -氰基的 I 型除虫菊酯对  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 也有一定程度的抑制作用, 且不含  $\alpha$ -氰基的 I 型除虫菊酯 (如联苯菊酯) 对二化螟  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 的抑制程度高于 II 型除虫菊酯

(如百树菊酯和三氟氯氰菊酯)。实验结果说明, 菊酯类药剂对二化螟  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 的抑制程度可能与是否含  $\alpha$ -氰基无关, 这与 Clark 和 Matsumura (1982) 的结论不同。何运转等 (2001) 用家蝇脑突触体进行研究, 发现溴氰菊酯、氯菊酯对家蝇敏感品系的  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 基本无抑制作用。Clark 和 Matsumura (1982) 在研究拟除虫菊酯对乌贼巨大神经轴突作用时, 发现二氯苯醚菊酯和溴氰菊酯都对  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 有抑制作用, 抑制的强弱与  $\alpha$ -氰基无关。Luo 和 Bodnary (1988) 在披肩粘虫 *Mamestra configurata* 脑突触体实验中也得到相同的结论。综上所述, 拟除虫菊酯类杀虫剂对昆虫  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 的抑制作用可能比较复杂, 不但与杀虫剂的种类有关, 而且与昆虫的种类也有关系, 其抑制动力学及酶结合位点尚需进一步研究。

由于 ATPase 是拟除虫菊酯类和有机氯类杀虫剂的作用靶标之一, 所以这两类杀虫剂对其抑制程度比有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂要大。但不同菊酯类杀虫剂对 ATPase 的抑制作用不完全一致, 对  $\text{Na}^{+}$ - $\text{K}^{+}$ -ATPase 和  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 的抑制程度也不相同。本研究中所涉及的菊酯类杀虫剂对  $\text{Na}^{+}$ - $\text{K}^{+}$ -ATPase 的抑制程度均高于有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂, 这也进一步证明了  $\text{Na}^{+}$ - $\text{K}^{+}$ -ATPase 是菊酯类杀虫剂的作用靶标之一。

有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂的主要靶标是乙酰胆碱酯酶, 但对 ATPase 也有一定程度的抑制作用。曾晓岚 (1995) 研究了拟除虫菊酯类和有机磷杀虫剂对家蝇线粒体 ATPase 的抑制作用, 结果表明,  $1.66 \times 10^{-4}$  mol/L 辛硫磷和  $1.75 \times 10^{-4}$  mol/L 马拉硫磷对 ATPase 的抑制率分别为 24.80% 和 26.07%。本实验中把  $\text{Na}^{+}$ - $\text{K}^{+}$ -ATPase 和  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase 分开进行测定, 如果把二者的结果加在一起, 则当浓度为  $1 \times 10^{-4}$  mol/L 时, 甲胺磷和三唑磷对 ATPase 的抑制率分别为 33.94% 和 15.91%。在实验中还发现, 有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂主要抑制  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase, 对  $\text{Na}^{+}$ - $\text{K}^{+}$ -ATPase 的抑制程度很小。这一结果是否与有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂作用于 ATPase 的位点有关, 尚需进一步研究。

### 参考文献 (References)

- Al-Rajhi DH, 1990. Properties of Ca-Mg-ATPase from rat brain and its inhibition by pyrethroids. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 37: 116–120.
- Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248–254.

Clark JM , Matsumura F , 1982. Two different types of inhibitory effects of pyrethroid on nerve Ca and Ca-Mg-ATPase activity in the squid *Loligo pealei*. *Pestic. Biochem. Physiol.* , 18 : 180 – 190.

Clark JM , Matsumura F , 1987. The action of two classes of pyrethroid on the inhibition of brain Na-Ca and Ca-Mg hydrolyzing activities of the American cockroach. *Comp. Biochem. Physiol.* , 86C : 135 – 145.

Feng BY , Xu MY , 1981. A sensitive method for determining the activity of Na-K-ATPase of synaptosomes in mouse brain. *Progress in Biochemistry and Biophysics* , 8( 2 ) : 48 – 49. [ 冯北元 , 徐慕禹 , 1981. 大鼠脑突触体 Na-K-ATPase 活力的微量测定方法. 生物化学与生物物理进展 , 8( 2 ) : 48 – 49 ]

He YZ , Li M , Feng GL , Wang YC , 1999. Inhibition of pyrethroid insecticides on the nerve Na-K-ATPase in houseflies ( *Musca domestica* ). *Acta Entomol. Sin.* , 42( 1 ) : 19 – 24. [ 何运转 , 李梅 , 冯国蕾 , 王荫长 , 1999. 拟除虫菊酯对家蝇 Na-K-ATPase 抑制作用的研究. 昆虫学报 , 42( 1 ) : 19 – 24 ]

He YZ , Li M , He FQ , Feng GL , Wang YC , 2001. Inhibition of pyrethroid insecticides on nerve Ca-ATPase , Ca-Mg-ATPase in houseflies ( *Musca domestica* ). *Acta Entomol. Sin.* , 44( 3 ) : 297 – 303. [ 何运转 , 李梅 , 何凤琴 , 冯国蕾 , 王荫长 2001. 拟除虫菊酯对家蝇 Ca-ATPase 和 Ca-Mg-ATPase 的抑制作用. 昆虫学报 , 44( 3 ) : 297 – 303 ]

Jiang JL , 1989. Advances on the study of molecular toxicology of pyrethroid insecticides. *Entomological Knowledge* , 26( 1 ) : 48 – 53. [ 姜家良 , 1989. 拟除虫菊酯杀虫剂的分子毒理学研究进展. 昆虫知识 , 26( 1 ) : 48 – 53 ]

Jiang ZS , Shang ZZ , Wang XB , Yang SH , 2000. Preliminary study on the application of Na-K-ATPase in adult *Periplaneta americana* as a screening target. *Chinese Journal of Pesticides Science* , 2( 4 ) : 28 – 32. [ 蒋志胜 , 尚稚珍 , 王晓博 , 杨淑华 , 2000. 美洲大蠊 Na-K-ATPase 作为筛选靶标的初步研究. 农药学报 , 2( 4 ) : 28 – 32 ]

Li H , 1996. Advance of ATPase. *Journal of Biology* , 69 : 9 – 12. [ 李宏 , 1996. ATPase 的研究进展. 生物学杂志 , 69 : 9 – 12 ]

Luo M , Bodnary RP , 1988. The effect of insecticides on Ca-Mg-ATPase and the ATP dependent calcium pump in moth brain synaptosomes and synaptosome membrane vesicle from the bertha armyworm , *Mamestra configurate* Wik. *Pestic. Biochem. Physiol.* , 30 : 155 – 165.

Matsumura F , Ghiasuddin SM , 1979. Characteristics of DDT-sensitive Ca-ATPase in the axonic membrane. In : Narahashi T ed. *Neurotoxicology of Insecticides and Pheromones*. New York : Plenum Press. 245 – 257.

Skou JC , 1992. The Na-K-ATPase. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* , 24( 3 ) : 249 – 261.

Tian Y , Leng XF , 1999. Inhibition of protein phosphorylation and ATPase activity by deltamethrin in housefly brain synaptosomes. *Acta Entomol. Sin.* , 42( 2 ) : 113 – 118. [ 田雨 , 冷欣夫 , 1999. 溴氰菊酯对不同品系家蝇脑突触体膜蛋白磷酸化及 ATP 酶活性的影响. 昆虫学报 , 42( 2 ) : 113 – 118 ]

Xu YH , Song KH , 1986. A sensitive and simple method for determining the activity of ATPase. *Progress in Biochemistry and Biophysics* , 13( 4 ) : 64 – 66. [ 徐友涵 , 宋逵华 , 1986. 一种简便、灵敏的 ATPase 活性测定方法. 生物化学与生物物理进展 , 13( 4 ) : 64 – 66 ]

Zhang XL , Jia FX , Yu LH , 1994. Effect of decamethrin and cypermethrin on activities of Ca-ATPase of mitochondria and microsome of rat liver. *Chinese Journal of Public Health* , 13( 5 ) : 303 – 305. [ 张秀莲 , 采访贤 , 于丽花 , 1994. 拟除虫菊酯类农药对大鼠肝线粒体、微粒体 Ca-ATPase 酶活力的影响. 中国公共卫生学报 , 13( 5 ) : 303 – 305 ]

Zeng XP , 1995. Study of the effect insecticides on the mitochondrial energy linked ATPase in the house flies ( *Musca domestica* L. ). *Chinese Journal of Vector Biology and Control* , 6( 4 ) : 253 – 256. [ 曾晓芑 , 1995. 杀虫剂对家蝇线粒体 ATP 酶活性影响的研究. 中国媒介生物学及控制杂志 , 6( 4 ) : 253 – 256 ]

( 责任编辑：黄玲巧 )